

Síntese em Fase Sólida Convergente de derivados 5-amido diidropirimidinonas.

Felipe S. Siqueira*, Allan Crestani, Rômulo F. S. Canto, Vera L. Eifler-Lima.

Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal-LaSOM, Faculdade de Farmácia/UFRGS, Av. Ipiranga 2752 Porto Alegre/RS.

Dennis Russowsky

Laboratório de Síntese Orgânica e Materiais Inteligentes, Instituto de Química/UFRGS.

Síntese em Fase Sólida Convergente de derivados 5-amido diidropirimidinonas.

Abstract: Dihydropirimidinones (DHPMs) are molecules whose synthesis is known since 1893, and lately has been receiving increased attention due to its diversity of pharmacological actions, such as: anti-tumor activity, antiviral, antiinflammatory, calcium channel blocker and antiparasitic. In our study, we performed the synthesis of DHPM, its hydrolysis by conventional heating and microwave, and after that, was added amine in these DHPMs hydrolysed by solid-phase organic synthesis (SPOS).

Keywords: dihydropirimidinones, Biginelli reaction, Solid-phase organic synthesis

Introdução

A síntese de diidropirimidinonas (DHPM) através de uma reação de condensação de um aldeído aromático, uréia e acetoacetato de etila é conhecida desde 1893 e foi realizada pela primeira vez por P. Biginelli, desde então, esta reação ficou conhecida como Reação de Biginelli (1,2,3,4). Esta é uma reação multicomponente (RMC), pois ocorre entre três componentes em um mesmo frasco reacional. Uma reação multicomponente apresenta como vantagem a simplicidade da técnica de execução, pois todos os reagentes estão no mesmo recipiente, diminuindo o número de etapas, e com isso pode trazer benefícios do ponto de vista econômico e ambiental (5). Na reação original foram utilizados aldeídos aromáticos (**1**), compostos β -dicarbonílicos (**2**) e uréia (**3**), em presença de HCl (Esquema 1). Estas condições forneceram compostos com baixos rendimentos, mesmo sendo empregados longos tempos de reação e condições fortemente ácidas (4). Desde então, muitos protocolos foram feitos para sua síntese objetivando aumentar os rendimentos (1). Recentemente, em nosso laboratório (LaSOM) foi desenvolvido um método ambientalmente benigno, utilizando trietilortoformato (TEOF) como promotor da reação e ácido cítrico como catalisador. Estas condições resultaram em melhores rendimentos (74 a 97%), bem como tempos de reações curtos (1-2h) (5).

As DHPMs são freqüentemente chamadas de “estruturas privilegiadas”, pois a partir delas pode se obter uma grande diversidade de moléculas. O sistema diidropirimidinona possui 6 diferentes pontos onde é possível a modulação química (figura 1). Em trabalhos anteriores realizados em nosso laboratório, a hidrólise na posição 5 foi realizada com sucesso, ao contrário de outros estudos encontrados na literatura, onde ocorreu a descarboxilação(6)

Uma modificação possível de ser feita é o acoplamento de uma amina ao ácido na posição 5 de uma DHPM hidrolisada. Um dos meios utilizados para fazer essa modificação é através da síntese orgânica em fase sólida (SOFS). A SOFS foi descrita pela primeira vez em 1964 por Bruce Merrifield (7). Nesta técnica, o material de partida é acoplado em um polímero (resina) inerte e insolúvel no meio reacional e todas as reações são realizadas com este material preso à resina. O último passo consiste na clivagem do produto ligado à resina, liberando então o produto do polímero e com alto grau de pureza (8), sendo que o LaSOM é um dos grupos pioneiros desse método no Brasil (9,10, 11). Uma vantagem consiste na facilidade de purificação dos componentes intermediários formados, realizada com lavagem e filtração da resina com solventes de diferentes polaridades (8).

As DHPMs são estruturas muito atraentes devido a sua diversidade de ações farmacológicas, como antitumoral, antiviral, antiinflamatória e bloqueador de canais de cálcio (3). O protótipo para ação antitumoral da série das DHPM, o Monastrol, é conhecido por inibir a cinesina Eg5 e pode ser considerado útil para o desenvolvimento de novos hits com atividade antitumoral (12). Em trabalho realizado em nosso laboratório, duas DHPM (LaSOM 64 **5** e LaSOM 65 **6** (Figura 2) apresentaram resultados *in vivo* para o tumor sarcoma 180 superiores aos apresentados pelo Monastrol (5). Outra ação recentemente publicada é a atividade antiparasitária, em especial a atividade leishmanicida (13). Sabe-se que 90% da Leishmaniose Visceral ocorre no Brasil, Índia, Bangladesh, Sudão, e Nepal (14).

O presente trabalho teve como objetivo realizar a síntese em fase sólida convergente de 5-amino diidropirimidin-thionas com o objetivo de gerar diversidade química no Monastrol e análogos.

Resultados e Discussões

As reações de hidrólise foram realizadas com aquecimento convencional e sob irradiação das microondas por ação de KOH etanólico (Esquema 2). Os resultados destas reações estão expressos na tabela abaixo.

A condição que forneceu o maior rendimento foi a que utilizou uma temperatura de 70° e tempo de 5 horas. Quando a temperatura foi aumentada para 90°C, houve um decréscimo no rendimento.

Quando utilizado o microondas, o melhor rendimento (47%) foi quando utilizado um tempo de 6 minutos. Apesar de haver uma grande diminuição no tempo quando utilizado o microondas em lugar do aquecimento convencional, os seus rendimentos foram menores.

As reações de SOFS estão indicadas no esquema 3. A reação de formação do carbonato a partir da Resina Wang e *p*-nitro-fenilcloroformato foi realizada com sucesso, conforme indicado no espectro de infravermelho com as bandas em 1525 e 1345 cm^{-1} mostrando haver a presença de NO_2 aromático, e do aparecimento da banda de carbonato em 1765 cm^{-1} . À partir da reação desse carbonato com diversas diaminas, foi possível a obtenção do carbamato **9** conforme visto nos espectros de infravermelho através da banda de carbamato em 1710 cm^{-1} e do desaparecimento das bandas em 1525 e 1345 cm^{-1} . A reação de acoplamento entre o linker carbamato-amina **9a-c** e o ácido **7** foi realizada com sucesso, conforme visto pelo teste de kaiser e por espectro no infravermelho, já que houve a presença de banda de NH em 3175 cm^{-1} , NO_2 em 1530 e 1343 cm^{-1} , e amida em 1659 cm^{-1} .

Para a liberação do produto da resina foi utilizado TFA em DCM, 2:5h com rendimentos de: 6% para a 1,4-diaminobutano; 8% para a etilenodiamina e 11% para a piperazina. No espectro de infravermelho é visto a presença de banda de NH 3174 cm^{-1} e outra menor parcialmente enconberta em aproximadamente 3100 cm^{-1} , uma banda de amida em 1658 cm^{-1} , e ausência da banda em 1765 cm^{-1} que indicava a presença do carbamato. Para aumentar os rendimentos foi empregado H_4LiAl , fornecendo um rendimento de 21%, porém o produto obtido foi diferente. Conforme estudo publicado em 1997 (15), o produto liberado na clivagem quando utilizado o H_4LiAl deve possuir uma metila ligada à amina, formando uma amina secundária. Isto foi confirmado através do espectro de infravermelho, onde é visto a presença de uma banda unica de NH em 3339 cm^{-1} . Há ainda a banda de amida em 1620 cm^{-1} , banda de NO_2 em 1523 e 1345 cm^{-1} e a ausência em 1765 cm^{-1} correspondente à ligação C=O do carbamato, com isso confirmando o sucesso da clivagem. Em conclusão, a síntese em fase sólida realizada permite a formação dos produtos planejados, necessitando de otimização, que está em andamento.

Materiais e Métodos:

Informações gerais

Informações gerais

Os produtos e intermediários reacionais foram analisados no Espectrômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Spectrum BXII, Perkin Elmer, pertencente ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As vibrações axiais e angulares foram expressas em cm^{-1} . As amostras foram analisadas em pastilhas de KBr (2-5%) ou através da utilização de ATR.

O microondas utilizado é um reator da marca Discover CEM®, modelo PN#CE-925SB200 University-SPB-PLUG.

AS reações de acoplamento do linker à DHPM foram acompanhadas pelo teste de Kaiser. O teste de kaiser (teste da ninidrina) é um teste colorimétrico que detecta a presença de NH_2 livre. Quando positivo, apresenta a cor violeta, enquanto a cor amarela significa a ausência de NH_2 livre (16).

Diidripirimidinona 6

3-nitro-benzaldeído (1 eq., 2,26g), TEOF (2 eq., 5mL), tiouréia (2 eq., 2,28mg), acetoacetato de etila (1 eq., 1,9mL) e ácido cítrico (0,1 eq., 288mg) foram colocados em um balão com aquecimento a 100°C e agitação por aproximadamente 1 hora. Após resfriamento, foi colocada água gelada e guardado em geladeira por 24 h, e o produto recristalizado com acetonitrila.

Diidropirimidinona ácido 7

Método A: LaSOM 65 (1 eq., 300mg), KOH aquoso (1mol/L, 2mL) e etanol (2mL) foram colocados em um balão com temperatura variando de t.a. a 105°C , e o tempo de 2 horas a 5 dias, sendo a reação controlada com CCD. No final as reações foram acidificadas com HCl 37%, e feita a extração com acetato de etila. A fração orgânica foi lavada com brine e seco com sulfato de sódio. Após, a fração é filtrada, evaporado e o produto guardado em dessecador.

Método B: LaSOM 65 (1 eq., 150mg), KOH 10% etanólico 1mol/L, 1mL) e dioxano (5mL) foram colocados em um balão. O balão foi submetido às irradiações das microondas por 3 a 60 minutos, potência de 50W e temperatura variando de 70°C a 100° . Quando o tempo foi de 3 a 14 minutos, o balão foi utilizado fechado, e quando de 15 minutos a 1 hora, foi empregado balão aberto. Após, o meio reacional foi basificado com NaOH a 30%, extraído com acetato de etila, e a fase aquosa acidificada com HCl 37%. O produto foi extraído com acetato de etila, colocado brine e sulfato de sódio para secar, e filtrado, evaporado e guardado em dessecador.

Carbamato 9

O carbonato formado a partir da reação entre a resina Wang e o para-nitro-fenil-cloroformato foi suspenso em 10mL de diclorometano em um erlenmeyer. Após 10 minutos sob borbulhamento do nitrogênio, foi adicionado 6,5 mmol da amina (etilenodiamina, 1,3-diaminopropano, 1,4-diaminobutano, piperazina), e levado para um shaker por 2 horas. Após esse tempo, a resina foi lavada com clorofórmio, DMF, etanol, clorofórmio, éter, e então guardada por em dessecador.

DHPM- 5-carboxamida ligada à resina 10

O carbamato **9** foi suspenso em um erlenmeyer com 10 mL de diclorometano. Após 10 minutos sob borbulhamento do nitrogênio, foi adicionado o ácido **7** (380mg), HOBT (3µg) e DIC (0,5mL), e deixado sob agitação no shaker. Após 7 dias realizou-se o teste de kaiser e feito o espectro de infravermelho. A resina foi filtrada e lavada com clorofórmio, DMF, etanol, clorofórmio, e éter, e guardado em dessecador.

Diidropirimidinona 5-carboxamida 11

Em um erlenmeyer foi borbulhado nitrogênio a uma suspensão de 1g de DHPM-5-carboxamida **10** em 6 ml de diclorometano seco por *ca* de 15 min. Após, foram adicionados 3mL de TFA, e deixado em um shaker durante 2 horas e meia. Após, a resina foi lavada com diclorometano, etanol e diclorometano. A fração orgânica foi evaporada, adicionado água, e o produto foi extraído com acetato de etila. À fração orgânica foi adicionado brine e sulfato de sódio para secar. A fase orgânica foi filtrada e evaporada, e basificada com NaHCO₃ 0,1M e NaOH 0,5 M e guardado em geladeira para que precipitasse, e após alguns dias foi filtrado e o produto guardado em dessecador.

Diidropirimidinona 5-carboxamida 12

Em um balão foi adicionado 1g da DHPM-5-carboxamida **10** e 10mL de THF destilado. Após 10 minutos, o balão foi colocado em um banho de gelo, e foi adicionado 380mg de LiAlH₄ e após aproximadamente 20 minutos, o balão foi colocado em aquecimento a 50°C por 24 horas. Então foi adicionado 5 mL de NaOH 30%, e lavado com diclorometano, etanol, diclorometano, éter, e a fração orgânica foi evaporada e guardada em dessecador.

Conclusões

As reações de hidrólises foram realizadas com sucesso, sendo que os maiores rendimentos foram observados quando utilizado aquecimento convencional e uma temperatura de aproximadamente 70°C, e tempo de 5 horas. Quando utilizado microondas, o melhor rendimento foi encontrado quando utilizado o balão fechado, com tempo de 6 minutos e temperatura de 100°C.

Nas reações de fase sólida, quando utilizado o TFA os rendimentos foram de 11%. Quando foi utilizado o LiAlH₄ o rendimento foi de 21%. A partir destes resultados iniciais, selecionamos o tetrahidreto de alumínio e lítio para a otimização da clivagem dos produtos da resina. Este trabalho está em andamento.

Agradecimentos: CNPq (Universal xxx, Bolsas de PQ (VLEL), Mestrado (RC) e IC (AC)), Rede INCT XXX, Maristela Piedade pela assistência técnica e realização dos infravermelhos.

Bibliografia

1. Kappe, C.O. *Molecules* **1998** 3,1 – 9.
2. Debache, A. Et al *Tetrahedron Letters* **49** **2008** 6119-6121.
3. Rafiee, E.; Jafari, H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **16** **2006** 2463-2466.
4. Biginelli, P. *Gazz. Chim. Ital.* **1893**, 23, 360
5. Canto, R.F.S. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2009.
6. Steele, T.G. et al. *Tetrahedron Letters* **39** **1998** 9315-9318.
7. Merrifield, R.B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149.
8. Marquardt, M.; Eifler-Lima, V.L. *Quim.Nova*, **2001**, 24, 846.
9. Gouault, N. et al. *22 Reunião Anual – Sociedade Brasileira de Química*, Poços de Caldas, Brasil, 1999.
10. Antonow, D. et al. *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, 16, 477.
11. Antonow, D. et al. *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, 5, 782
12. Kolosov, M.A. et al. *Mol. Divers* **2008**, 9, 5.
13. Singh, N. et al. *Parasitol Res.* **2009** 105:1317-1325
14. <http://www.oneworldhealth.org/diseases/leishmaniasis.php>, acessada em março 2010
15. Ho, C.Y.; Kukla, M.J. *Tetrahedron Letters* **38** **1997** 2799-2802
16. Alles, I.M. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 2005

Esquema 1.

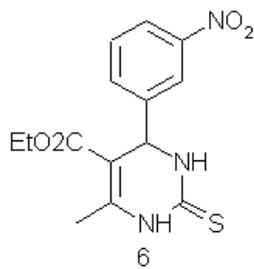
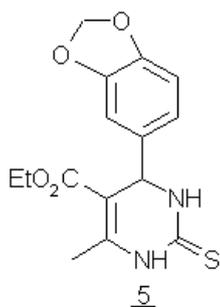
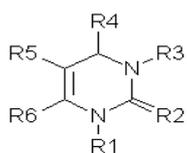
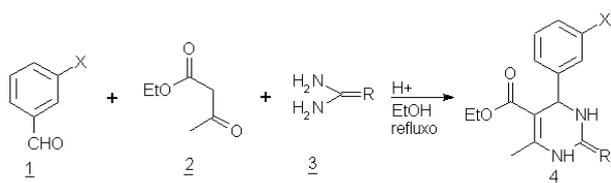
Figura 1. Pontos de modificações das DHPMs

Figura 2. LaSOM 64 e LaSOM 65

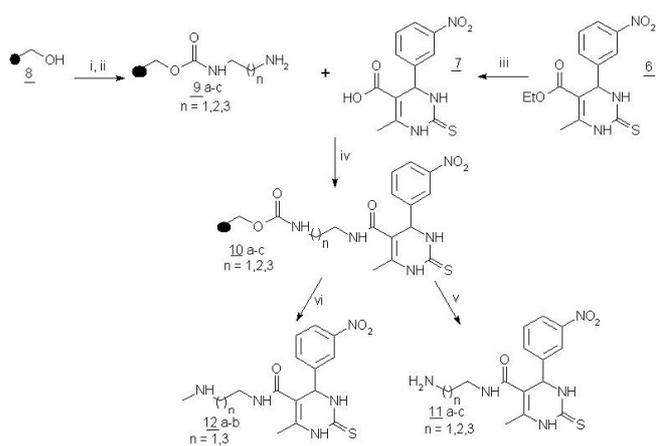
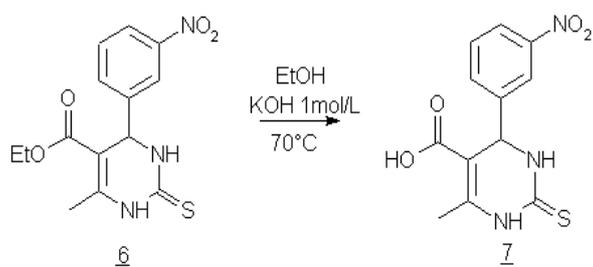
Tabela 1. Tempos, temperaturas e rendimentos das reações de hidrólise.

Esquema 2.

Esquema 3: Condições: i) *p*-NO₂-Ph-clorofornato (3eq), Piridina (1 gota), DCM, 2h, T.A.; ii) diamina (10eq.), DCM, 2h, T.A.; iii) KOH (3 eq.), EtOH, 5h, 70°C; iv) DIC (0,5mL), HOBT (0,3μg), DCM, 7 dias, T.A.; v) TFA (3mL), 2:30h, T.A. vi) LiAlH₄ (10eq.), 24h, 50°C.



Tipo de aquecimento	tempo	temperatura	Rendimento
Convencional	5 dias	50° C	55%
Convencional	5 horas	70° C	84%
Convencional	4 horas	70° C	63%
Convencional	2 horas	90° C	75%
Microondas	3 minutos	100°C	16%
Microondas	6 minutos	100°C	47%
Microondas	15 minutos	80° C	9%
Microondas	60 minutos	95°C	29%



Este artigo foi elaborado segundo as normas da revista Química Nova, apresentadas em anexo.

Artigos Originais (em português, inglês ou espanhol): refere-se a trabalhos inéditos de pesquisa. Devem seguir a forma usual de apresentação, contendo Introdução, Resultados e Discussão, Parte Experimental etc, de acordo com as peculiaridades de cada trabalho. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

PREPARAÇÃO DE MANUSCRITOS - Todos os trabalhos deverão ser digitados em espaço duplo, utilizando somente Microsoft Word. A seguir, deve ser gerado um único arquivo no formato *.pdf*, do trabalho todo, para ser submetido através do sistema *on line de QN*. A revista não aceita mais a submissão de trabalhos por outra forma.

A primeira página deverá conter o título do trabalho, nome e endereço dos autores. Havendo autores com diferentes endereços, estes deverão vir imediatamente após o nome de cada autor. Os autores deverão ser agrupados por endereço. O autor para correspondência, que deverá ser o mesmo que submete o artigo *on line*, deverá ser indicado com asterisco (*) e seu e-mail colocado no rodapé da página (um só e-mail).

A segunda página deverá conter o título e o resumo do trabalho em inglês (abstract), com no máximo 100 (cem) palavras, e a indicação de 3 palavras-chave (keywords), também em inglês.

As figuras (incluindo gráficos, esquemas, etc) deverão ser em número máximo de 7 figuras simples e ter qualidade gráfica adequada (usar somente fundo branco). Para número maior ver o item Material Suplementar. As figuras, tabelas, esquemas, etc deverão ser colocadas após as referências e devidamente identificadas pelo respectivo número. Se escaneadas, deverão ser em alta resolução (800 dpi/bitmap para traços).. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente, além de boa qualidade gráfica. Considerar que as figuras deverão ter largura máxima de uma coluna (8,5 cm).

Figuras coloridas terão custo de publicação repassado aos autores, quando da publicação. Esse valor só poderá ser informado aos autores quando o trabalho estiver previsto para ser publicado, ocasião em que a gráfica fornece o orçamento.

Para figuras, gráficos, esquemas, tabelas, etc idênticos aos já publicados anteriormente na literatura, os autores deverão pedir permissão para publicação junto à empresa/sociedade científica que detenha os direitos autorais e enviá-la à editoria de *QN* junto com a versão final do manuscrito.

As referências deverão ser numeradas consecutivamente no texto, na forma de expoentes, após a pontuação (se houver). A lista de referências deverá ser colocada no final do texto. As legendas das figuras, gráficos e esquemas deverão ser colocadas em uma única folha à parte, separadas das figuras. A seguir, deverão ser colocadas as figuras, os gráficos, os esquemas, as tabelas e os quadros. Colocar os títulos acima de cada tabela. No texto, deverá ser indicada apenas a inserção de cada um(a).

Referências

Revistas:

Será utilizada a abreviatura da revista como definida no Chemical Abstracts Service Source Index (ver <http://www.cas.org/sent.html>). Caso a abreviatura autorizada de uma determinada revista não puder ser localizada e não for óbvio como o título deve ser abreviado, deve-se citar o título completo.

1. Varma, R. S.; Singh, A. P.; *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, 67, 518.

2. No caso especial da revista citada não ser de fácil acesso, é recomendado citar o seu número de Chemical Abstract, como segue:

Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; *Izv. Vyssh. Uchebn. Zadev.; Khim. Khim. Tekhnol.* **1976**, 19, 708. (CA 85:78051s).

3. Caso o trabalho tenha doi, mas não a referência completa, citar doi da seguinte maneira:

Vidotti, M.; Silva, M. R.; Salvador, R. P.; de Torresi, S. I. C.; Dall'Antonia, L. H.; *Electrochimica Acta* (2007), doi:10.1016/j.electacta.2007.11.029.

É recomendado o uso de referências compostas na medida do possível, em lugar de uma lista de referências individuais. O estilo das referências compostas é o seguinte:

4. Varela, H.; Torresi, R. M.; *J. Electrochem. Soc.* **2000**, *147*, 665; Lemos, T. L. G.; Andrade, C. H. S.; Guimarães, A. M.; Wolter-Filho, W.; Braz-Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1996**, *7*, 123; Ângelo, A. C. D.; de Souza, A.; Morgon, N. H.; Sambrano, J. R.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 473.

Patentes:

Devem ser identificadas da seguinte forma (na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado entre parênteses).

5. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* 79 73,771 **1979**. (CA 91:P193174v)

6. Kadin, S.B.; *US pat.* 4,730,004 **1988**. (CA 110:P23729y)

7. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T. *Br PI* 9.604.468-3, **1999**.

Livros:

com editor(es):

8. Regitz, M. Em *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry*; Regitz, M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, cap. 2.

sem editor(es):

9. Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed., Wiley: New York, 1988.

Programas de computação (Softwares):

10. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement*; Universidade de Göttingen, Alemanha, 1993.

Teses:

11. Velandia, J. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.

Material apresentado em Congressos:

12. Ferreira, A. B; Brito, S. L.; *Resumos da 20ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Poços de Caldas, Brasil, 1998.

Páginas Internet:

<http://www.s bq.org.br/jbcs>, acessada em Junho 2001.

Material não publicado:

Para material aceito para publicação: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, no prelo. Para material submetido mas ainda não aceito: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido. Para trabalho não publicado ou comunicação pessoal: Magalhães, U. H.; trabalho não publicado ou Magalhães, U. H., comunicação pessoal. Os resultados não publicados só poderão ser citados com a permissão explícita das pessoas envolvidas na sua obtenção.

Os autores devem procurar seguir, naquilo que for possível, as normas recomendadas pela IUPAC, inclusive o Sistema Internacional de Unidades. Sobre a nomenclatura de compostos (orgânicos e inorgânicos) já há traduções para a língua portuguesa publicadas em QN. Quanto aos Símbolos e Terminologias, onde não há tradução, espera-se que adaptação seja feita pelos autores, criando então, paulatinamente, um conjunto de normas em português.